合成生物学的医学应用研究进展

崔金明[1]　王力为[2]　常志广[1]　臧中盛[1]　刘陈立[1*]

1 中国科学院深圳先进技术研究院　深圳　518055

2 中国科学院　前沿科学与教育局　北京　100864

摘要　在医学应用领域，合成生物学以人工设计的基因线路改造人体自身细胞，或改造细菌、病毒等人工生命体，再使其间接作用于人体。这些经人工设计的生命体能够感知疾病特异信号或人工信号、特异性靶向异常细胞和病灶区域、表达报告分子或释放治疗药物，从而实现对人体生理状态的监测，以及对肿瘤、代谢疾病、耐药菌感染等典型疾病的诊断与治疗。文章将综述了合成生物学的医学应用领域近期的一些研究进展。

关键词　人工细胞，人工细菌，人工病毒，人工噬菌体

DOI　10.16418/j.issn.1000-3045.2018.11.010

当前，国际合成生物学领域呈现出学科和产业飞速发展、齐头并进的新局面。合成生物学这一学科的首要特征便是系统化地采用工程手段，有目的地设计人工生命体系，其研究范围涵盖较广。其中，合成生物学技术的医学转化应用研究受到了科技界和医学界的广泛关注。

在医学应用领域，合成生物学以人工设计的基因线路改造人体自身细胞，或改造细菌、病毒等人工生命体，再使其间接作用于人体。这些经人工设计的生命体能够感知疾病特异信号或人工信号、特异性靶向异常细胞和病灶区域、表达报告分子或释放治疗药物，从而实现对人体生理状态的监测以及对典型疾病的诊断与治疗。人工生命体因其智能性、复杂性和安全可控性等优点，将提升人们对肿瘤、代谢疾病、耐药菌感染等顽疾的诊断、治疗和预防水平，从而发挥合成生物学技术的颠覆性优势，有望开创智能生物诊疗的新时代。近期的一些研究进展综述如下。

1 细菌、病毒等人工生命体的设计改造

1.1 人工细菌的诊疗应用

细菌作为人类体内与体表最常见、数量最多的外源生物，从人类出生到死亡，细菌时时刻刻都与人的新陈代谢、免疫和衰老产生着千丝万缕的联系。以大肠杆菌等模式微生物为代表，细菌因其较易培养、结构相对简单、研究较为透彻和易于基因编辑等特点成为合成生物

*通讯作者

资助项目：中国科学院重点部署项目（KFZD-SW-216），中国科学院青年创新促进会（2016325），深圳市科创委基础研究（JCYJ20170818164139781），孔雀团队项目（KQTD2015033117210153），广州市民生科技攻关计划（201803020035）

修改稿收到日期：2018年10月28日

学研究与开发中较理想的底盘。近年来，合成生物学家通过精巧设计并构建智能基因线路，已在人体常在菌及一些致病菌中实现了计算、感知、记忆、响应等功能，并将其应用于医学研究与疾病诊疗，以期满足医学领域的特殊需求。

1.1.1 人工细菌用于肿瘤诊疗

基于合成生物学技术的细菌工程化改造为肿瘤治疗提供了全新的思路，细菌疗法因其具有良好的靶向性、较低的毒副作用，日益得到重视。早在 200 多年前，医生们就注意到了细菌感染有时会减缓肿瘤生长甚至将其根除。William Coley 医生将细菌灭活，制成了“科利毒素”（Coley’s toxins），最终成功治疗了超过 1 000 名肿瘤患者，这种治疗方法的成功率居然与现代的癌症治疗方法不相上下[1]。包括破伤风梭菌、丁酸梭菌等致病菌，以及嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、双歧杆菌等非致病菌都被报道可以用来治疗癌症，沙门氏菌由于其兼性厌氧、靶向能力强、具有天然毒性、易于改造等特点，被认为是最理想的肿瘤治疗载体[2,3]。

中国科学院深圳先进技术研究院团队着重于采用合成生物学手段，降低细菌毒性、提高靶向能力和赋予细菌多样化的功能，以期将细菌改造成更特异、更智能、更高效的抗肿瘤“武器”。细菌疗法在肿瘤微环境中不仅具有强烈的免疫调节作用，能够重新唤醒宿主免疫系统对肿瘤细胞的抑制；还可以将细菌作为药物或细胞因子的递送载体，增强肿瘤抑制效果。目前，该团队改造的人工细菌已进入临床前研究阶段并取得理想疗效，有望成为全球首个用于治疗实体瘤的活体生物药物。

美国麻省理工学院与加州大学圣地亚哥分校团队向大肠杆菌中植入 *lacZ* 报告基因，这一基因能够在细菌接触到肿瘤细胞时开启表达，从而产生大量的 *LacZ* 酶。接着，研究人员向小鼠注射交联的化学发光底物，这一底物在 *LacZ* 酶存在的情况下会被切割从而释放化学发光信号，并汇集到小鼠尿液中。具有这一信号的尿液样品会由原本的黄色变为红色。研究人员可以仅通过监测尿液颜色变化，从而对小鼠是否患瘤及肿瘤状态进行初步推测。研究人员发现这一手段比常规显微镜检测更加灵敏，能够检出直径小于 1 cm 的肿瘤[4]。

加州大学圣地亚哥分校与麻省理工学院团队构建了细菌周期性同步的药物合成和裂解释放系统。团队设计了基于群体感应的基因线路，让细菌在肿瘤环境内生长达到一定浓度阈值后自毁，同步爆发性释放出抗癌药物。该方法能够在实现细菌载药递送的前提下，最大程度上维持体内较低的细菌定殖数量，并减少对周围组织的损伤及毒副作用[5]。

1.1.2 人工细菌用于代谢疾病诊疗

美国生物药物公司 Synlogic 在2017年8月正式登陆纳斯达克资本市场，其重点业务是利用合成生物学遗传改造益生菌来治疗代谢疾病、炎症和癌症等。Synlogic 对益生菌进行基因改造后开发的 SYNC1618 被美国食品药品监督管理局（FDA）认定为治疗苯丙酮尿症（PKU）的孤儿药。Synlogic 还发起了尿素循环障碍（UCD）合成生物学治疗药品的人体临床试验，以验证人工细菌的治疗潜力。

哥伦比亚大学研发了肠道活细菌“记录仪”，可以实现肠道内多种代谢物的检测。该团队改造了一段 DNA 质粒，使其在肠道微生物宿主中响应外部信号时可以创建更多的自身拷贝，同时使用另一个独立的表达 CRISPR-Cas 系统组件的质粒驱动记录仪和标记时间。在没有外部信号的情况下，只有记录质粒活动，细胞把这些间隔序列拷贝插入基因组 CRISPR 位点。当添加外部信号时，另一质粒也被激活，其序列也被插入至 CRISPR 位点。这样，混合而成的背景序列就富含了时间和信号信息。研究人员可以通过检查细菌的各个 CRISPR 位点，用计算机工具读取细菌都经历了什么。文章证明，该系统至少能处理 3 个同步信号并储存宿主肠道中 3 天的数据信息[6]。

麻省理工学院团队研发了由活细胞传感器和超低功率微型电子器件组成的可吞入诊断工具。通过表达特

定基因线路的有益大肠杆菌，细菌在遇到血红素后立即表达发光蛋白，以检验消化道出血。细菌位于被半透膜覆盖的定制传感器上，这种膜可以允许周围小分子透过，但不会泄露细菌。在盛放细菌的 4 个小皿下面是一个光电晶体管，用于测量细菌的产光量，并将数据传递给微处理器，再通过无线电发送给附近的计算机或智能手机。研究人员专门开发了一款 Android 应用程序用来分析这些数据。当传感器通过胃部时，内部细菌就能一路捕获目标标志物。传感器总长仅约 3.8 cm，运行功率约 13 μW；目前在大型哺乳动物猪身上已证明了传感器的有效性[7]。该团队还另外设计了响应炎症标志物的其他传感器。

1.1.3 人工细菌用于抵抗疟原虫

疟疾由疟原虫这种单细胞生物寄生诱发，疟原虫通过受感染的雌性按蚊叮咬传至人类。因此，对按蚊的控制被认为是预防疟疾的重要手段。中国科学院上海植物生理生态研究所等发现一种沙雷氏菌属（*Serratia*）的新菌株 AS1 能在按蚊中进行持续跨代传播，并成功地人工构建出能同时分泌表达 5 个抗疟基因的菌株，能够有效减少 92%—93% 的疟原虫卵囊。通过高效驱动抗疟效应分子快速散播到整个蚊群中，能够使按蚊成为无效的疟疾媒介，实现从源头上阻断疟疾传播[8]。

1.2 人工病毒/噬菌体的诊疗应用

病毒是最简单的生命体，对病毒的基因改造非常有助于我们对特定基因的认识和利用。新兴的合成生物学为研究病毒及开发诊疗策略提供了新的思路和手段。

1.2.1 人工病毒用于减毒疫苗构建

北京大学团队通过合成生物学方法构建减毒活疫苗的策略被称为“合成减毒病毒工程技术”。研究人员利用琥珀密码子（终止密码子）可以识别非天然氨基酸的原理，将病毒复制基因的部分编码密码子突变成终止密码子，使其在感染人体细胞后，不能进行完整的蛋白质翻译，从而获得了活病毒疫苗。所获得的病毒疫苗具有安全性和有效性。进一步突变 3 个以上三联密码子，使病毒由预防性疫苗变为治疗病毒感染的药物，且其药效随着三联密码子数目的增加而增强。这一发现颠覆了病毒疫苗研发的理念，成为活病毒疫苗的重大突破。与依赖于少数的几个氨基酸突变所获得的传统减毒活病毒相比较，合成减毒病毒的减毒效果来源于多达几百处的密码子变化所产生的累积效应，因此几乎不可能回复突变到野生型病毒，其安全性大大提高；同时，获得减毒病毒株所需时间短，极大地缩短了疫苗的研发周期[9]。中国科学院武汉病毒研究所团队成功利用该技术研制出新型的寨卡病毒（ZIKV）弱毒疫苗，单次免疫后就可以刺激小鼠产生高滴度中和抗体，获得完全的攻毒保护，并且可以阻止 ZIKV 通过母体垂直传播给子代。由于其基因组中引入了 2 568 个同义突变，回复突变的风险极低[10]。

1.2.2 人工病毒用于肿瘤治疗

人工改造的溶瘤病毒可以通过选择性肿瘤细胞杀伤和抗肿瘤免疫的双重杀瘤机制，选择性地复制和杀死癌细胞而不伤害健康组织。其原理在于，肿瘤驱动突变往往特异性地增加肿瘤细胞中病毒复制的选择性，且许多肿瘤细胞具有抗病毒 I 型干扰素信号传导的缺陷，因此支持选择性病毒复制。肿瘤微环境中的病毒复制，可以克服肿瘤的免疫抑制，并促进抗肿瘤免疫。例如，北京奥源和力生物技术有限公司研发的重组人 GM-CSF 单纯疱疹病毒注射液（OrienX010），其基因组中删除了 HSV-1 的致病基因，并插入了编码人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）的 DNA 片段，使产品只特异性在肿瘤细胞中复制，导致肿瘤细胞裂解死亡，同时释放肿瘤抗原，并通过载体表达的 GM-CSF 蛋白激活全身抗肿瘤抗原的特异性免疫反应。OrienX010 已进入了国家优先审评药品目录，最快有望于 2019 年批准上市，用于瘤内注射治疗恶性黑色素瘤。目前已上市的溶瘤病毒产品有上海三维生物技术公司的安科瑞（腺病毒）用于头颈瘤治疗、美国安进公司的 T-VEC（单纯疱疹病毒）用于黑色素瘤治疗等。目前，我国已进入临床试验阶段的还有中山大学团队的甲病毒 M1，可用于 13 种高发肿瘤

的疗效及安全性评估；北京市神经外科研究所的溶瘤病毒 ON-01，可用于复发脑胶质瘤的治疗评估等[11]。

1.2.3 人工噬菌体用于耐药菌治疗

Sample6 Technologies 公司利用合成生物学技术改造噬菌体，可使噬菌体直接识别并杀死细菌，或产生特定酶来破坏细菌保护膜，从而使细菌被抗生素或机体免疫系统杀灭。

上海噬菌体与耐药研究所 2018 年 8 月成功治愈了一例超级细菌感染患者。患者是一位膀胱肿瘤术后复杂性、反复性尿路感染者，2014 年因全尿路内滋生了多重耐药的肺炎克雷伯菌（以下简称“肺克”），肺克在左、右肾盂和膀胱中分别建立了感染，3 处的肺克有联系又有差异，治疗难度很大。治疗团队最终确定了治疗方案：肾盂造瘘后通过造瘘管进行噬菌体冲洗合并抗生素静滴治疗 1 周，而后停抗生素并继续噬菌体治疗 1 周，最后全部停药并连续观察 1 个月。最终，患者泌尿系统的肺克被彻底杀灭，尿路刺激症状显著改善，生活质量得到了明显提高[12]。

2 人类自身细胞的设计改造

人体由体细胞与生殖细胞共同组成。体细胞作为人体结构和功能的基本单元，其数量达 40 万亿—60 万亿个，决定着人体的健康状况。生殖细胞则影响着下一代的健康状况。在体外细胞模型和动物模型中，经基因线路改造的人工细胞在单基因遗传病、癌症诊断、癌细胞识别、代谢性疾病（如痛风、糖尿病和高血压等）、感染性疾病治疗和干预等方面已取得重大突破，为进一步开展临床应用奠定了坚实基础。

2.1 人工细胞用于遗传病的基因治疗

医学史上有一些改变疾病治疗范式的大事件，比如外科手术的发明、抗生素的发现，而下一个大事件很可能是正在成熟的基因治疗。2017 年，美国 FDA 首次批准一种针对眼科遗传病的疗法 Luxturna。不久的将来，更多的基因治疗方法将从实验室走向临床，掀起一场新的医学革命，以往无法治愈的遗传疾病将从根源上得到缓解。

从原理上来说，基于小分子药物或蛋白的疗法需要反复给药（例如糖尿病患者需要反复注射胰岛素），而如果可修复病人的错误基因，那么单次治疗就可产生持续的治疗效果，达到控制甚至逆转遗传疾病的疗效。基因治疗有两大先决条件：① 需要有递送新基因的载体，最有临床前景的是逆转录病毒和腺相关病毒载体；② 需要有编辑、修复错误基因的手段，介导基因添加、基因删除、基因校正，以及细胞内其他高度靶向的基因组修饰，一般是采用三大基因编辑技术——锌指核酸酶技术（ZFN）、转录激活因子样效应子核酸酶技术（TALEN）和规律成簇的间隔短回文重复技术（CRISPR）。

基因治疗可以指针对体细胞所携带的单基因遗传病，在体内原位进行的基因疗法，也可以在体外改造血红细胞并回输人体内的疗法（亦称细胞疗法）。由于涉及人工细胞的设计改造以实现特定治疗功能，因此属于合成生物学范畴。基因治疗在临床治疗中非常有潜力，是合成生物学在医学领域应用的重大成果，许多不治之症有望得到缓解，近期案例包括：

2017 年，Sangamo 公司开展了全球首例人体内基因编辑治疗[13]。44 岁的 Brian Madeux 患有先天新陈代谢异常疾病亨特氏综合征，被通过静脉注射将数十亿份矫正基因及精准基因编辑工具注入患者体内。研究人员表示治疗效果很好，没有出现严重的副作用或安全问题。2018 年2月，Sangamo 公司被批准实施第二位患者的体内基因治疗。

辉瑞公司在临床实验中用锌指转录因子（ZFP-TFs）来治疗 *C9ORF72* 基因突变引起的肌萎缩性脊髓侧索硬化症（ALS），也称为渐冻人症，以及另一种叫额颞叶大叶性变性（FTLD）的神经变性疾病[14]。

赛诺菲集团旗下子公司 Bioverativ 从患者体内收集造血干细胞（HSCs），然后利用 ZFN 技术在体外对调控 *BCL11A* 基因的红细胞增强子进行精确切割，促

使 *BCL11A* 基因的表达下降。接受过基因编辑的 HSCs 会被重新注回患者体内，它们可以继续增殖并且分化为成熟的血红细胞，从而缓解镰状细胞病患者的症状。这种自体细胞疗法的优势在于不依靠病毒载体对基因进行编辑，从而避免病毒载体可能带来的副作用[14]。

英国制药公司 Shire 开发出了亨廷顿氏病基因疗法。亨廷顿氏病是由单个基因 *htt* 基因中的特定类型突变引起的。该疗法通过锌指蛋白特异性下调 *htt* 突变体基因，从而选择性地抑制突变型亨廷顿蛋白（HTT）的表达，同时保持正常基因拷贝的表达水平不变，以期逆转亨廷顿氏病的症状，阻止病情恶化。该疗法目前正在临床前研究阶段[14]。

除了治疗目的，还有生物黑客正利用基因治疗技术改造自身细胞，期望获得增强的人体功能。例如，原 NASA 科学家 Josiah Zayner 采用 CRISPR 技术，在自己身体内引入 *Myostatin* 基因突变，以增强肌肉生长。还有生物黑客在自己视网膜引入视紫红质基因，试图增强视力[15]。

2.2 人工细胞用于肿瘤诊疗

人工设计改造的免疫 T 细胞正在成为强有力的癌症药物，肿瘤细胞免疫治疗被认为是 2017 年全球生物科技最大“风口”，癌症免疫疗法还拿下了 2018 年诺贝尔生理学或医学奖。继以 PD-1/PD-L1 为代表的免疫检查点抑制剂药物在癌症研究和治疗领域大放异彩，CAR-T 疗法更成为有望战胜癌症的重磅武器。CAR-T 技术，即采用人工合成的嵌合抗原受体（chimeric antigen receptors，CARs）在体外工程化改造T细胞。与天然的生理抗原受体不同，CARs 可以被工程化设计，识别肿瘤特异的蛋白质、糖脂、HLA 多肽复合物等。人工设计改造后的 T 细胞经过扩增再回输患者体内，特异性识别、结合、杀伤癌症细胞，从而达到靶向治疗的目的。

在临床应用领域，CAR-T 疗法当前在全球正在进行 307 项临床试验，其中 164 项来自中国。2018 年 7 月，美国批准了诺华公司的 Kymriah（曾用名 CTL019）这一全球首个 CAR-T 产品上市，用于治疗急性淋巴细胞白血病，Kymriah 产品定价为 47.5 万美元。Kite 公司的Yescarta（KTE-C19）也紧随其后获批上市，产品定价 37.3 万美元。

我国研发单位在激烈的全球竞争中不落下风，临床试验数量约占全球一半，靶点除 CD19 之外还包括 MCU-1、EPCAM 和 GPC3 等最新靶点。中国人民解放军总医院（301 医院）已于 2014 年开始了相关临床试验，其研发管线也最为丰富；四川大学华西医院、第三军医大学西南医院、上海肿瘤研究所与仁济医院等也取得了良好疗效。国内进入 CAR-T 领域的公司有药明巨诺、复星凯特、上海昆朗、上海比昂、科济生物、优卡迪、恒润达生、中源协和、南京传奇、南京凯地、北京马力喏、西比曼和博雅控股等。

CAR-T 技术在新靶点寻找、实体瘤攻克、通用型生产等方面，仍需不断改善。在基础研究领域，科学家也在利用合成生物学手段，不断设计性能更优的人工细胞。近期研究进展包括：

深圳市第二人民医院团队利用逻辑“与门”及“信号连接器”概念，设计构建基因线路进行膀胱癌细胞识别和治疗。该团队利用 CRISPR-Cas9 系统成功构建了携带逻辑“与门”的基因线路，利用膀胱癌特异性启动子 UPⅡ和端粒酶逆转录酶作为输入信号：当两种启动子均激活时，方可启动下游信号（如荧光素酶）的表达，从而将膀胱癌细胞与其他细胞实现有效区分；当输出信号为细胞凋亡相关分子，则还可实现特异性杀伤目的。该研究为膀胱癌和其他肿瘤检测和治疗提供了一个标准化的合成生物学平台，对开发新的肿瘤生物治疗器件具有重要的指导意义。该团队还创造性地提出“信号连接器”概念，即将发挥内源蛋白识别功能的核酸适配体 RNA 与发挥靶点 mRNA 识别功能的引导 gRNA 连接，这种新型“信号连接器”可在细胞内特异性识别癌信号通路关键蛋白分子，并进一步借助 gRNA 靶向抑制癌信号分子的翻译效率，从而在诊断上定量检测多个层面的

生物信号，综合判断膀胱癌细胞所处的疾病状态，并在治疗上利用重新构建的基因线路替代膀胱癌细胞内原已受损的基因线路使细胞恢复到正常状态，从而达到了精准诊断、特异高效治疗肿瘤的目的[16]。

加利福尼亚大学团队合成了细胞感应分子——Notch（包含新的外部传感部件和新基因活化部件）用于杀死肿瘤细胞。研究表明，Notch 分子可以让细胞在体内识别多种分子并打开特定基因的响应。例如，细胞会感应分子损伤并打开刺激修复的基因，或感应癌症相关分子并激活相应功能基因，促使免疫系统杀死肿瘤细胞。它们还可用于感应微小人造支架的蛋白质，令细胞分化填充膀胱、肝脏或生成替代器官[17]。

基于癌细胞与正常细胞的基因表达谱的显著差异，麻省理工学院团队研发了自动检测癌症信号的合成基因线路，专门区分癌细胞和非癌细胞，触发机体免疫系统攻击癌细胞。利用病毒载体将基因线路呈递给目标细胞后，合成启动子就会与肿瘤细胞的特定活跃蛋白结合，完成自身活化；当两种癌症启动子同时被激活后，基因线路才会自动打开；随后，各种功能蛋白（细胞表面蛋白、细胞因子、趋化因子等）就会引导 T 细胞识别和杀死肿瘤细胞[18]。

2.3 人工细胞用于代谢疾病诊疗

人工设计的细胞能够感知代谢疾病的特异信号或人工信号，特异性表达报告分子或释放治疗药物，从而实现对人体生理代谢状态的监测，以及对典型疾病的诊断与治疗。

瑞士苏黎世联邦理工大学团队利用人类的肾脏细胞（HEK-293 细胞），设计获得了具有正常 β 细胞功能的人工 HEK-β 细胞。这种细胞可以直接感受血液中的葡萄糖浓度，当血糖浓度超过一定阈值后，HEK-β 细胞便可以分泌足够的胰岛素用来降血糖。该团队还构建了光控合成生物学线路，有效控制了糖尿病小鼠体内的血糖浓度。此外，结合纳米技术、生物技术与信息技术，可用射频信号、手机程序等手段远程激活应答调控系统，也可控制胰岛素的释放。这些研究为动态调控人工细胞应用于人类糖尿病治疗提供了有力支持[19]。

华东师范大学团队构建了一株含有胰岛素传感器的稳转细胞系 HEKIR-Adipo，并通过微囊包裹技术将其移植到胰岛素抵抗性糖尿病、肥胖症、饮食诱导性肥胖症等多种高胰岛素血症小鼠模型中。人工细胞能高效识别、自我回馈调节血液中胰岛素水平，当血液里的胰岛素超过一定阈值后，其可以调控表达脂联素（Fc-adiponectin），从而缓解胰岛素抵抗症状，起到治疗效果。研究人员还设计合成了远红光调控基因表达的定制化细胞，该定制化细胞在远红光的照射下，可以被激活表达任何想要的报告基因或药物蛋白基因，如产生绿色荧光蛋白或胰岛素等。当研究人员将远红光控制胰岛素表达的定制化细胞移植到糖尿病小鼠皮下时，给予糖尿病小鼠直接远红光照射，可以激活皮下移植的细胞表达胰岛素并起到良好的降血糖效果[20]。团队进一步设计开发了糖尿病诊疗一体化智能控制系统：小鼠的血糖值由血糖仪读取获得后，可通过蓝牙无线发送到定制的智能控制器和智能手机中。当血糖值高于预先设定的安全血糖阈值时，智能控制器可以点亮移植在小鼠体内含有定制化细胞的水凝胶 LED 复合体，从而激活定制化细胞产生胰岛素或 GLP-1 达到降血糖并维持血糖稳定的作用，最终实现自动诊断、精准治疗的目的[21]。在另一项研究中，该团队将齐墩果酸（OA）的药理学活性和胰高血糖素样肽（shGLP-1）的改善胰岛素抵抗、改善肝功能、改善胰腺功能完美集合起来。构建优化的基因线路，经 OA 诱导可以精准调控 shGLP-1 的表达，使得肝源性糖尿病模型小鼠的糖耐受、胰岛素抵抗、高血糖症、脂代谢紊乱，以及肝功能紊乱等多种代谢异常症状同时得到有效改善[22]。

2.4 人类生殖细胞的设计改造

设计修改人类生殖细胞或胚胎的基因，能够在婴儿出生之前就清除致命疾病，因而未来前景广阔。但由于涉及对人类胚胎的操纵，且修改后的基因可以遗传，因

此该方面的研究存在一定的安全风险及伦理法律争议。

2015年，中山大学研究人员使用CRISPR基因编辑技术，修正人类胚胎中导致β型地中海贫血的基因。研究选用的是来自志愿者的废弃且不能正常发育的胚胎[23]。2016年4月，广州医科大学附属第三医院团队成功使用CRISPR编辑技术对人类胚胎进行基因编辑，精确定位切除了*CCR5*基因的32个碱基，使得部分胚胎获得了对艾滋病病毒的免疫能力[24]。2017年8月，美国俄勒冈健康与科学大学等团队合作使用基因编辑工具CRISPR系统，完成了对人类胚胎中导致肥厚型心肌病的*MYBPC3*基因突变的安全修复[25]。该技术还能够编辑修复其他高外显率的疾病基因，如引起囊肿性纤维化或乳腺癌的相关基因。胚胎基因编辑技术与体外生殖及移植前基因诊断技术相结合，将能够彻底预防遗传疾病传播给子孙后代。

2.5 用于人工细胞设计合成的使能技术的发展与动物模型的研究进展

人体细胞作为高等真核细胞的一种，具有多样性、多细胞性、复杂调控、细胞分化、亚细胞区室化等特殊性质，为合成生物学提供了无限可能。DNA的高效递送及靶向稳定整合、基因编辑、人工染色体设计合成、丰富多样的基因调节、区室隔离的代谢反应等使能技术的成熟发展，将极大促进人工设计的人体细胞在医学领域的应用。由于篇幅所限，在此不作详细介绍。

动物模型研究对于临床研究必不可少，可为其提供技术范本和理论依据。科学家将基因编辑技术与体细胞核移植技术相结合，构建获得了一批动物模型，自1996年第一只体细胞克隆绵羊“多莉”诞生后，小鼠、牛、山羊、猪、猫、兔、骡、马、大鼠等多种哺乳动物的体细胞克隆相继获得成功，但犬与猴的克隆难度较大。近年来中国科学家在这些方面取得突破，中国科学院神经科学研究所团队成功培育出世界上首对体细胞克隆猴，灵长类动物模型的建立对于脑疾病领域的研究意义非凡[26]。中国科学院广州生物医药与健康研究院团队以*ApoE*基因敲除犬的耳部皮肤成纤维细胞作为核移植供体，构建了世界首个基因敲除体细胞克隆的动脉粥样硬化狗模型[27]；该团队还把人突变的亨廷顿基因粘贴到猪的亨廷顿基因中，获得的小猪模型不仅具有大脑中特异神经元选择性死亡这个特征，而且能表现出类似舞蹈样的异常行为，这些病理特征及异常行为都可以稳定地遗传给后代，从而为临床研究提供了可靠的动物模型[28]。

3 合成生物诊疗的未来展望

人工改造的活细菌、活细胞、病毒/噬菌体可能是迄今为止人类开发的最复杂的“药物”，有望解决一些至今让医学界束手无策的疾病。从近年趋势来看，合成生物诊疗未来将迎来更多的临床试验和商业开发。

在大规模开展临床试验的同时，合成生物学作为一门新兴学科，我们也不能忘记把目光重新聚焦于基础研究。例如，尽管CAR-T肿瘤免疫治疗当前非常热门，但在顶级期刊*Nature Medicine*（《自然医学》）上刚刚发表了一个令人震惊的CAR-T细胞治疗后复发的临床案例[29]，这一技术意外搞出了“CAR-癌细胞”：其原因是本该加到T细胞上、帮助T细胞特异性识别CD19并抓住癌细胞的CAR（嵌合抗原受体），意外地被加到患者癌变的B细胞上，形成了“CAR-癌细胞”；加到癌细胞上的CAR会与癌细胞表面的CD19结合，让CAR-T细胞失去了识别癌细胞的靶标，这名患者最终由于“CAR-癌细胞”大量增殖导致死亡。

因此，对人工活体药物的理性设计、精确定量控制、体内体外功能的预测、从基因到表型的机制，以及活体药物进入人体内的命运等，还需要更加深入的研究。活体药物设计改造应充分考虑宿主细胞、表达系统、基因线路控制、系统鲁棒性等因素，以期达到更好的时间和空间上的可控性，使治疗更具针对性。未来，合成生物学基础研究的深度很大程度上将决定临床应用的成败。

合成生物诊疗技术在进步的同时，也需要政策与伦理研究的跟进，以保证这种革命性的技术健康有序发展。

相对于其他治疗方式，合成生物学诊疗涉及一些新的伦理与安全问题。2016年，美国FDA出台了一份指南[30]，明确阐明了一些以食物或膳食补充剂合法问世的活性生物疗法产品（live biotherapeutic product，LBP）能怎样被用于研究，并解释了研究人员在早期临床试验中，要满足怎样的生产要求，才能将益生菌当作药物。

我国在这方面的监管仍需加快布局，确保在现有的监管体系内建立起现代、高效的评估政策。一方面充分发挥活性生物疗法产品的潜在益处，另一方面也了解其中的特定风险。合成生物诊疗产品还需要更多的研发，需要精心设计的临床试验来确保这些产品的安全性与有效性，从而释放合成生物学在医学应用中的潜力，造福个体与公众健康。

参考文献

1 Richardson M A, Ramirez T, Russell N C, et al. Coley toxins immunotherapy: a retrospective review. Alternative Therapies in Health and Medicine, 1999, 5(3): 42.

2 Forbes, N. S. Engineering the perfect (bacterial) cancer therapy. Nature Reviews Cancer, 2010, 10(11): 785-794.

3 Yu B, Yang M, Shi L, et al. Explicit hypoxia targeting with tumor suppression by creating an “obligate” anaerobic Salmonella Typhimurium strain. Scientific Reports, 2012, 2: 436.

4 Danino T, Prindle A, Kwong G A, et al. Programmable probiotics for detection of cancer in urine. Science Translational Medicine, 2015, 7 (289): 289ra84.

5 Din M O, Danino T, Prindle A, et al. Synchronized cycles of bacterial lysis for in vivo delivery. Nature, 2016, 536(7614): 81-85.

6 Sheth R U, Yim S S, Wu F L, et al. Multiplex recording of cellular events over time on CRISPR biological tape. Science, 2017, 358(6369): 1457-1461.

7 Mimee M, Nadeau P, Hayward A, et al. An ingestible bacterial-electronic system to monitor gastrointestinal health. Science, 2018, 360(6391): 915-918.

8 Wang S, Dos-Santos A L A, Huang W, et al. Driving mosquito refractoriness to Plasmodium falciparum with engineered symbiotic bacteria. Science, 2017, 357(6358): 1399-1402.

9 Si L, Xu H, Zhou X, et al. Generation of influenza A viruses as live but replication-incompetent virus vaccines. Science, 2016, 354(6316): 1170-1173.

10 Li P, Ke X, Wang T, et al. Zika virus attenuation by codon pair deoptimization induces sterilizing immunity in mouse models. Journal of Virology, 2018, 92(17). pii: e00701-18.

11 Piotr Wnuk. Oncolytics: the dawn of a new era in cancer treatment. [2018-08-02]. https://pharmaphorum.com/views-and-analysis/oncolytics-new-era-cancer-treatment/.

12 吴蓉. 首例超级细菌感染患者经噬菌体治疗痊愈. [2018-08-15]. http://www.sh.chinanews.com/yljk/2018-08-15/43418.shtml.

13 Associated Press. Second man undergoes gene editing; Therapy has no safety flags so far. [2018-02-06]. https://www.voanews.com/a/second-man-undergoes-gene-editing/4242428.html.

14 医麦克. 潜心研究ZFN基因编辑技术20年 Sangamo公司成为行业领导者. [2018-07-30]. http://med.sina.com/article_detail_103_2_49638.html.

15 Tom Ireland. I want to help humans genetically modify themselves. [2017-12-24]. https://www.theguardian.com/science/2017/dec/24/josiah-zayner-diy-gene-editing-therapy-crispr-interview.

16 Liu Y, Zeng Y, Liu L, et al. Synthesizing AND gate genetic circuits based on CRISPR-Cas9 for identification of bladder cancer cells. Nature Communations, 2014, 5: 5393.

17 Roybal K T , Lim W A. Synthetic immunology: hacking immune cells to expand their therapeutic capabilities. Annual Reviews of Immunology, 2017, 35: 229-253.

18 Nissim L, Wu M R, Pery E, et al. Synthetic RNA-based immunomodulatory gene circuits for cancer immunotherapy. Cell, 2017, 171(5): 1138-1150.

19 Xie M, Ye H, Wang H, et al. β-cell-mimetic designer cells provide closed-loop glycemic control. Science, 2016, 354(6317): 1296-

1301.

20 Ye H, Xie M, Xue S, et al. Self-adjusting synthetic gene circuit for correcting insulin resistance. Natute Biomedical Engineering, 2017, 1(1): 0005.

21 Shao J, Xue S, Yu G, et al. Smartphone-controlled optogenetically engineered cells enable semiautomatic glucose homeostasis in diabetic mice. Science Translational Medicine, 2017, 9(387): eaal2298.

22 Xue S, Yin J, Shao J, et al. A synthetic-biology-inspired therapeutic strategy for targeting and treating hepatogenous diabetes. Molecular Therapy, 2017, 25(2): 443-455.

23 Liang P, Xu Y, Zhang X, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. Protein and Cells, 2015, 6(5): 363-372.

24 Kang X, He W, Huang Y, et al. Introducing precise genetic modifications into human 3PN embryos by CRISPR/Cas-mediated genome editing. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 2016, 33(5): 581-588.

25 Ma H, Marti-Gutierrez N, Park SW, et al. Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. Nature, 2017, 548(7668): 413-419.

26 Liu Z, Cai Y, Wang Y, et al. Cloning of macaque monkeys by somatic cell nuclear transfer. Cell, 2018, 174(1): 245.

27 Feng C, Wang X, Shi H, et al. Generation of apoe deficient dogs via combination of embryo injection of crispr/cas9 with somatic cell nuclear transfer. Journal of Genetics and Genomics, 2018, 45 (1): 47-50.

28 Yan S, Tu Z, Liu Z, et al. A huntingtin knockin pig model recapitulates features of selective neurodegeneration in huntington's disease. Cell, 2018, 173(4): 989-1002.

29 Ruella M, Xu J, Barrett D M, et al. Induction of resistance to chimeric antigen receptor T cell therapy by transduction of a single leukemic B cell. Nature Medicine, 2018, 24(10): 1499-1503.

30 US Department of Health and Human Services. Early Clinical Trials with Live Biotherapeutic Products: Chemistry, Manufacturing, and Control Information. [2016-06-01]. https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/General/UCM292704.pdf.

Progress of Synthetic Biology Research in Medical Applications

CUI Jinming[1] WANG Liwei[2] CHANG Zhiguang[1] ZANG Zhongsheng[1] LIU Chenli[1*]

（1 Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China;

2 Bureau of Frontier Sciences and Education, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China）

Abstract In the field of medical applications, synthetic biology researchers design genetic circuits to modify human cells, or to modify synthetic organisms such as bacteria and viruses and make them interact with the human body. These artificially designed organisms are capable of perceiving disease-specific signals or artificial signals, targeting abnormal cells and foci, expressing reporter molecules or releasing therapeutic drugs, thus enabling the monitoring of human physiological conditions and the diagnosis and treatment of typical diseases such as tumors, metabolic diseases, and drug-resistant bacteria infections. This article will comprehensively describe some recent research progress.

Keywords synthetic cell, synthetic bacteria, synthetic virus, synthetic phage

*Corresponding author



崔金明 中国科学院深圳先进技术研究院副研究员，中国科学院青年创新促进会会员。美国普渡大学获生物化学博士学位，美国约翰·霍普金斯大学医学院从事博士后研究。研究领域为膜蛋白元件的定向进化、应用微生物学，以及合成生物学科发展政策与伦理研究。作为项目负责人，主持国家级基金2项，地方基金4项。E-mail: jm.cui@giat.ac.cn

CUI Jinming Associate Investigator at the Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences (CAS), and member of the Youth Innovation Promotion Association, CAS. He received his Ph.D. in biochemistry from Purdue University, followed by postdoctoral research at School of Medicine, Johns Hopkins University. His current research interests include directed evolution of membrane proteins, applied microbiology, and policy and ethics study of synthetic biology. As a project leader, he has presided over two national funds and four regional funds. E-mail: jm.cui@giat.ac.cn



刘陈立 中国科学院深圳先进技术研究院合成生物学研究所所长、研究员，定量合成生物学中心主任。主要研究方向为合成生物基因线路探索生物学的基本原理、肿瘤治疗和定向进化方法开发。牵头筹建“深圳合成生物研究重大科技基础设施”。入选中组部“青年千人计划”、中国科学院“百人计划”。荣获2012年度“香港青年科学家奖”和“李嘉诚奖”、2017年度中源协和生命医学奖创新突破奖。担任*ACS Synthetic Biology*编委、中国生物工程学会合成生物学专业委员会副主任兼秘书长、深圳合成生物学协会会长等。

E-mail: cl.liu@siat.ac.cn

LIU Chenli Principal Investigator and Director of the Institute of Synthetic Biology, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, CAS, and Director of the Center for Quantitative Synthetic Biology. His research interests include exploring the fundamental principles of biology with synthetic gene circuits, tumor therapy, and development of directed evolution methods. He also leads the preparation of the “Shenzhen Major Science and Technology Infrastructure for Synthetic Biology Research” as the Chief Scientist. He is an awardee of the national “Thousand Youth Talents Program” and the “Hundred Talents Program” of CAS. He has been awarded the “Hong Kong Young Scientist Award” and “Li Ka-shing Award” in 2012, and the Zhongyuan Concord Biomedicine Innovation Breakthrough Award in 2017. He serves as an editor of *ACS Synthetic Biology*, as the Deputy Director and Secretary-General of the Chinese Bioengineering Society, and as President of the Shenzhen Synthetic Biology Association. E-mail: cl.liu@siat.ac.cn

■责任编辑：张帆